云 南 植 物 研 究　1993; 15 (4): 385—391
Acta Botanica Yunnanica

穗花杉染色体的研究 *

管启良
(杭州大学生物系, 杭州 310012)

俞仲辂 冯有林
(杭州植物园, 杭州 310013)

摘要 穗花杉(*Amentotaxus argotaenia* (Hance) Pilger)为国家三级重点保护的珍稀濒危植物, 雌雄异株。根尖细胞染色体分析表明: 雌株和雄株的染色体数目为 2n=40, 其中第 1 对和第 2 对为中部着丝粒染色体, 第 3—20 对为端部着丝粒染色体。核型为 2n=40=4m+36T。雌雄株除第 2 对的长度稍有差异外, 其余各对的相对长度和臂比都较近似, 可能尚无性染色体分化。Giemsa C 带显示, 间期核有 3 个较大的染色中心, 最长的 3 条染色体的中央缢痕有深染色带纹, 可能是着丝粒和 NOR 的复合结构。雌雄株间无明显差异。从染色体数目、随体和次缢痕位置看, 穗花杉均不同于红豆杉科其它属和三尖杉科, 而接近罗汉松科罗汉松属的某些种。本作者赞同 Hance 将穗花杉属归于罗汉松科。

关键词 穗花杉; 染色体; 核型; Gimesa C 带

STUDIES OF CHROMOSOMES IN AMENTOTAXUS ARGOTAENIA

GUAN Qi-Liang[1], YU Zhong-Lu[2], FENG You-Lin[2]
([1]*Department of Biology, Hangzhou University*, Hangzhou 310012)
([2]*Hangzhou Botanical Garden*, Hangzhou 310013)

Abstract *Amentotaxus argotaenia* (Hance) Pilger is valuable and imminent danger plant and belongs tio the prior protective plant of third class in our county. It is dioecious. Through the chromosomal analysis at the cell of root tip, it is shown as below: the chromosome number in both the female and male plants is found to be 2n=40. Among them both third to twentieth paris of chromosome are metacentric chromosomes, the third to twentieth paris of chromosome are telochromosomes. The karyootypic formula is 2n=40=4m+36T. Besides there is a little difference of the second pair of chromosome in both the female plant and male plant. The relative length and arm ratio of the other pairs of chromosome all are more approximate. It may not be differentiae in the sex chromosomes.

According to the Giemsa C banding it is shown that the interphase nucleus has three bigger chromocentres. In the middle part of the three longest chromosomes there is a banding widely and darkly stained. It may be compound structure of the centromere and NOR. It is not obviously different in both the female plant and male plant.

From the chromosome number and the place of satellite and secondary constriction, the

* 国家自然科学基金资助项目

1992-04-21 收稿

Amentotaxus argotaenia all differs from other genera of Taxaceae and Cephalotaxaceae. But it is near some species of *Podocarpus* in the Podocarpaceae. The results made in prasent study will support Hance's concept in that the *Amentotaxus argotaenia* is belong to the Podocarpaceae.

Key words *Ammentotaxus argotaenia;* Chromosome; Karyotype; Giemsa C banding

穗花杉属(*Amentotaxus* Pilger)是我国裸子植物的特有属之一，该属有 3 个种。其中穗花杉产于赣、鄂、湘、川、粤、桂、黔等地，1975 年在浙江龙泉也有发现。

穗花杉为国家三级重点保护的珍稀濒危植物，雌雄异株。1883 年 Hance 将穗花杉归属于罗汉松科罗汉松属的一个种[*Podocarpus argotaenia* (Hance)]，此后的 100 多年来，其分类归属一直是分类学家反复争论的问题。人们从植物形态学、胚胎学、解剖学、孢粉学等资料对其归属提出了不同的见解，归纳起来有 3 种看法：(1) 把穗花杉属放入三尖杉科 (Cephalotaxaceae) [1—2]；(2) 归入红豆杉科(Taxaceae) [3—8]；(3) 将穗花杉属上升为一个新科——穗花杉科(Amentotaceae) [9—11]。

穗花杉的细胞学资料很少，其染色体数目仅有一例报道，为 x＝7 [10]。本文主要对浙江产的穗花杉的染色体数目、核型、C 带带型等进行研究，旨为穗花杉属的分类提供细胞学依据。

材料和方法

供扦插用的穗花杉[*Amentotaxus argotaenia* (Hance) Pilger]嫩枝取自浙江龙泉岩樟。1989 年 7 月从穗花杉的 14 株雌树和 12 株雄株树上，分别剪取 261 个雌枝和 155 个雄枝，扦插于杭州植物园的苗床中，次年 4—5 月切取各个插穗的幼根。对二氯苯饱和水溶液处理 24 小时以上（室温 15℃左右），甲醇–冰醋酸 (3∶1) 固定 1 天，换 70%酒精保存备用。作核型分析的幼根用盐酸–酒精 (1∶1) 解离 10 分钟，卡宝品红染色、压片。一部分幼根用酶解去壁低渗滴片法 [12]。各选 8 张染色体分散良好的雌雄株中期分裂相照片进行核型分析。

作 C 带法的幼根用 3%纤维素酶和果胶酶 (1∶1) 于 30℃处理 3—4 小时，涂片，气干 10 小时左右，0.1mol／L HCl 处理 20 分钟，5% $Ba(OH)_2$ 于 50℃处理 5 分钟，4×SSC 60℃温育 30 分钟，7% Giemsa 染液(pH 6.8)染色 50 分钟左右。各选取 5 个中期分裂相，结合各染色体长度进行带型分析。

结 果

穗花杉雌株和雄株的核型和带型如图 1 和图 3 所示，核型模式图见图 2，核型分析参数列于表 1。

穗花杉的染色体数目和核型

根据 73 个中期细胞的观察，雌雄株的染色体数目均为 2n＝40，其中第 1 和第 2 对为中部着丝粒染色体，第 3—20 对为端部着丝粒染色体(图 1：1—4)。各条染色体的长、短臂末端均无随体。其核型为 2n＝40＝4m+36T。在最长的 4 条中部着丝粒染色体中，第 1 对染色体两臂中间的缢痕较长（图 3：e)，可能是主缢痕（着丝粒）和次缢痕的共同所在，其间为小随体分隔。第 2 对染色体中，雄株的 2 条染色体长度和臂比上有些差异，其中 1 条的相对长度为 8.40，臂比为 1.04；另 1 条的长度和臂比分别为 8.96 和 1.23，两者的差异不大。雌株的 2 条染色体的长度和臂比基本相同，分别为 82.5 和 1.09。其余 19 对染色体的长度和臂比都较近似（表 1)。因此，穗花杉雌雄株间的核型差异不显著，似乎尚无性染色体分化。

穗花杉的染色体较大，最长的约 16μm，最短的为 7.2 μm 左右。按 Stebbins 的核型不对称性分类属 3B 型。

图 1 穗花杉的染色体形态和核型，雄株：a, b, c；雌株：d, e, f(箭头所示为中部着丝粒染色体)

Fig. 1 The mprphology and karyotypes in *Amentotaxus argotaenia*, male plant: a, b, c; female plant: d, e, f (The arrow shows the metacentric chromosomes)

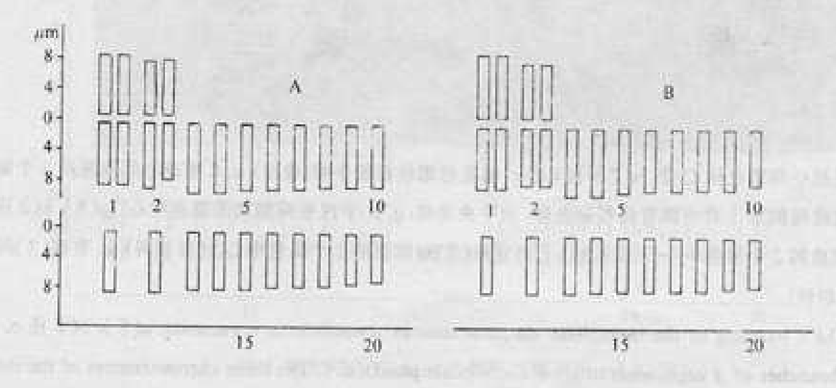


图 2 穗花杉的核型模式图，A(♂)；B(♀)

Fig. 2 The idiogram of *Amentotaxus argotaenia*. A(♂; B(♂)

Giemsa C 带带型

带型分析表明，雌雄株的第 1 对染色体的中央缢痕显示较宽而深染的带纹，可能是着丝粒带和次缢痕带并合而成。第 2 对染色体中，1 条的中央缢痕也有稍窄的深染的带纹，而另一条的带纹不明显。其余的端部着丝粒染色体中多数显示狭小的深浅不同的着丝粒带或末端带（图 3：a，b），但不够稳定。

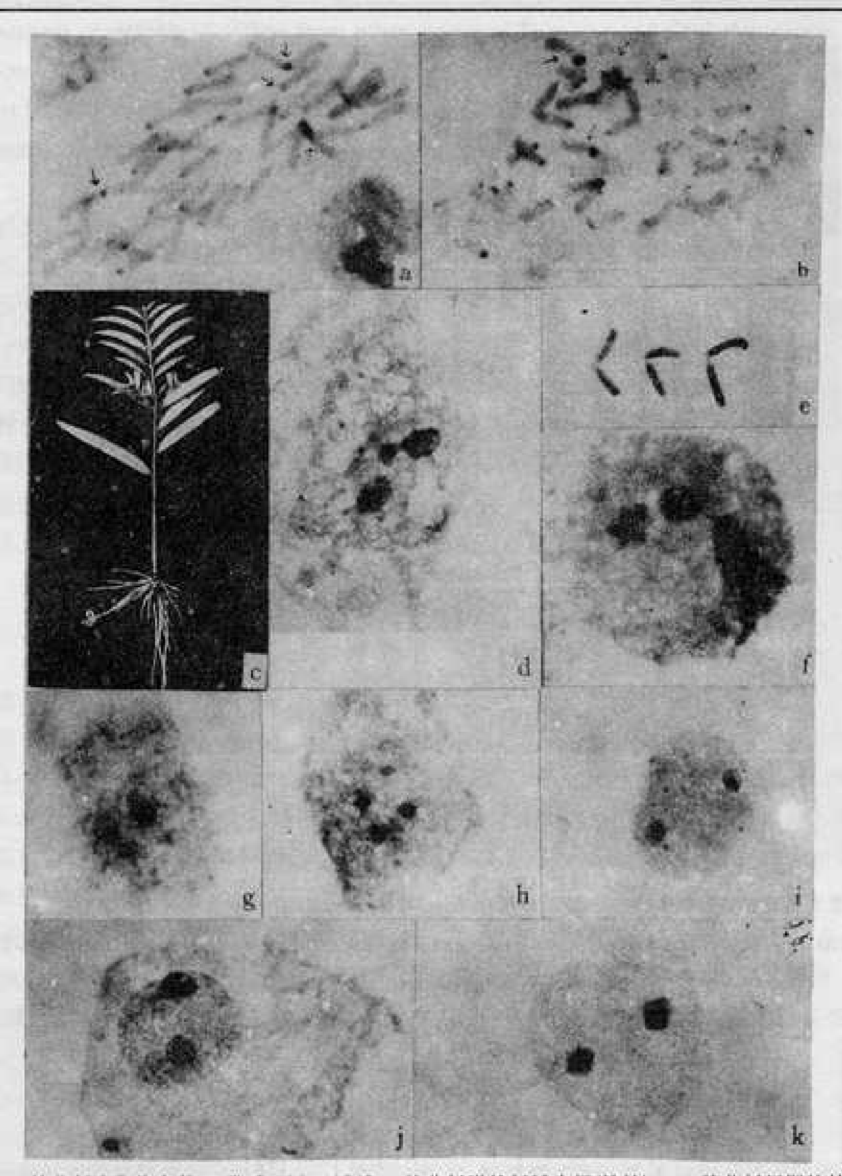


图 3 a, b. 穗花杉中期染色体 C 带, [a(♂); b(♀)]; c. 穗花杉嫩枝扦插生根(雄株); d, f. 穗花杉间期核的 3 个染色中心, [d(♂); f(♀)]; e. 雌雄株的第 1 对中部着丝粒染色体, 示中央缢痕; g, h. 罗汉松间期核的染色中心, [g(♂); h(♀)](罗汉松科); i. 粗榧(♀)间期核的 2 个染色中心(三尖杉科); j. 白豆杉(♂)间期核的 2 个染色中心(红豆杉科); k. 香榧(♂)间期核的 2 个染色中心(红豆杉科)

Fig. 3 a, b. The c banding of the metaphase chromosomes in *Amentotaxus argotaenia*. a(♂); b(♀)]; c. Cutting young and tender branches of *A argotaenia* to grow roots (male plant); d, f. The three chromocentres of the interphase nucleue in *A. argotaenia*. [d(♂); f(♀)]; e. The first pair of metacentric chromosome from the female plant and male plant, it shows the median constriction; g, h. The chromocentres of the interphase nucleue in *Podocarpus macrophyllus*. [g(♂); h(♀)]; (Podocarpaceae); i. The two chromocentres of the interphase nycleue in *Cephalotaxus sinensis*(♀)(Cephalotaxaceae); j. The two chromocentres of the interopase uncleue in *Pseudotaxus chienii*(♂)(Taxaceae); k. The two chromocentres of the interphase nucleue in *Torreya grandis*(♂)(Taxaceae).

表 1 穗花杉的核型分析参数

Table 1 The paramenter of karyotype analysis of *Amentotaxus argotaenia*

Chromosome No.	Male plant		Female plant		Type
	RL[1)]	AR[2)]	RL	AR	
1	9.21	1.06	9.30	1.05	m
	8.40	1.04	8.52	1.09	m
2	8.96	1.23			m
3	5.39		5.40		T
4	5.22		5.15		T
5	5.03		5.01		T
6	4.95		4.93		T
7	4.88		4.85		T
8	4.81		4.76		T
9	4.76		4.71		T
10	4.74		4.65		T
11	4.63		4.59		T
12	4.58		4.53		T
13	4.43		4.46		T
14	4.37		4.39		T
15	4.30		4.33		T
16	4.21		4.26		T
17	4.18		4.23		T
18	4.03		4.14		T
19	3.90		3.98		T
20	3.70		3.81		T

1)RL: relative length; 2)AR: arm ratio

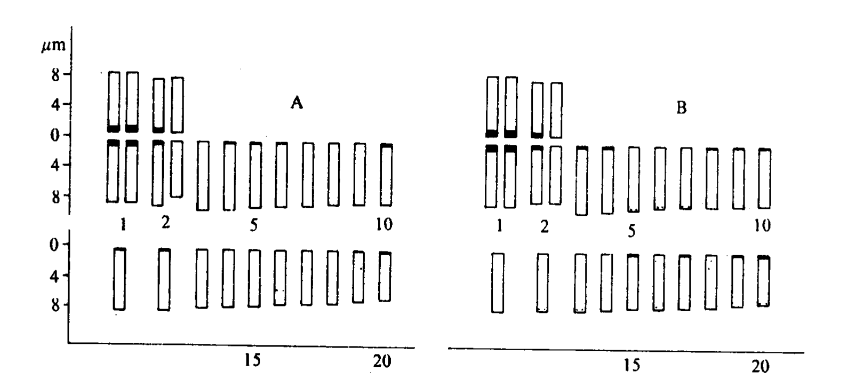


图 4 穗花杉的 Giemsa C 带带型模式图，A(♂；B(♀)

Fig. 4 The idiogram of Giemsa C banding pattern in *A. argotaenia*, A(♂); B(♀)

间期核有 3 个深染的球状体，当显带失败或未作 C 带处理时就不能显现。这些显然是浓缩状态的结构异染色质在间期核所形成的染色中心（图 3：d，f）。因此，其核仁组成区（NOR）可能位于第 1 对和第 2 对中的 1 条染色体的中央缢痕处。雌雄株在带型上无明显差异。

讨 论

穗花杉的染色体数目和核型

Chuang 和 Hu[10] 报道穗花杉(*A. argotaenia* Li)2n＝14, 由 10 条长的和 4 条短的染色体组成, 在第 3 对染色体的长臂末端有小随体。我们的结果与此相差甚远，开始我们怀疑是否制片方法不妥，使中部着丝粒染色体断裂所致，故又用酶解涂片和去壁低渗滴片法进行比较，结果大多数仍是端部着丝粒染色体。因此，我们认为穗花杉的核型确是 2n＝40＝4m+36T。Chuang 和 Hu 所用材料系采自台湾省台东市塔武（Tawu）姑仔仑山（Kutzelanshan）的 1 株台湾穗花杉幼树的幼根。1952 年 H. L.Li（李惠林）[6] 根据穗花杉的叶片大小和形状, 以及气孔带的宽度和颜色, 把穗花杉分为 3 个种。认为台湾的穗花杉不同于穗花杉(*A. argotaenia* Li), 而立为新种——台湾穗花杉(*A. formosana* Li)。Chuang 和 Hu 则认为台湾穗花杉和穗花杉不过是同种异名。根据中国植物志[7] 的记载，产于台湾南部（包括台东）的穗花杉实际上应是台湾穗花杉。

穗花杉的随体和 NOR 的位置

通常在一个植物细胞的染色体中，至少有 1 对同源染色体上具有随体和次缢痕，后者往往是核仁组成区（NOR）所在，其位置多数在某对染色体的短臂上。研究表明，穗花杉各对染色体的长、短臂上均无随体和次缢痕。用 Giemsa C 带法却能稳定地显示最长的 3 条染色体中央缢痕的深染带纹，与间期核有 3 个染色中心相对应，表明其 NOR 很可能位于第 1 对和第 2 对（其中 1 条）染色体的中央缢痕处。

穗花杉与红豆杉科和三尖杉科的关系

据植物形态学、胚胎学等资料[8,13]，穗花杉属与三尖杉科和红豆杉科都有许多共同特征，关系密切。认为穗花杉属可以作为这两科之间的链节，是三尖杉科过渡到红豆杉科的桥梁。多数学者赞同将穗花杉属归属于后者。席以珍[11] 根据穗花杉属花粉外壁表面纹饰和内部超微结构，认为既不同于红豆杉科，也有别于三尖杉科，而赞同将它上升为穗花杉科。

日诘雅博等[14] 有关细胞学资料和我们的研究表明, 红豆杉科的红豆杉属(*Taxus*, 2n＝24), 榧树属(*Torreya*, 2n＝22)和白豆杉属(*Pseudotaxus*, 2n＝24)(遗传学报待发表)以及三尖杉科的三尖杉属(*Cephalotaxus*, 2n＝24)的染色体数目均与穗花杉不同。虽然，穗花杉的总臂数为 44，与榧树属相同，从臂数看，似乎是榧树属（如香榧）的 22 条中部着丝粒染色体中，有 18 条染色体的着丝粒断裂而成。榧树属有 1 对染色体的短臂上具有较大的随体，但穗花杉染色体的臂上无此随体。穗花杉的 20 对染色体中有 18 对是端部着丝粒染色体，而在红豆杉科中除了红豆杉属和白豆杉属有 1 对端部着丝粒染色体外其余染色体，也包括榧树属和三尖杉科的三尖杉属均是中部或亚中部着丝粒染色体。红豆杉科各属和三尖杉属染色体的随体和次缢痕均位于某对染色体的短臂上，它也是 NOR 的所在，间期核形成 2 个染色中心（图 3：i，j，k)。因此，从染色体数目、随体和次缢痕位置以及核型上，穗花杉是不同于红豆杉科各属和三尖杉科的。

穗花杉与罗汉松科的关系

罗汉松科植物也是雌雄异株，雄球花穗状。其染色体数目在 2n＝18—38 之间[18]。在染色体数少的种内，中部着丝粒染色体较多；在染色体数多的种内，端部着丝粒染色体较多。穗花杉的染色体若按其形态可写作 n＝20＝2V+18I（V 表示中部着丝粒染色体，I 表示端部着丝粒染色体)，与罗汉松科的罗汉松属染色体数较多的种(如 *Podocarpus nivalis* n＝19＝1V+18I)比较接近。罗汉松科有 8 属 130 多种（我国有 2 属 14 种）[7]，各属种的染色体数目变幅较大，其间期核染色中心的数目可能也因此而不同。罗汉松属的罗汉松（*Podocarpus macrophyllus*（Thumb）D. Don）雌株的染色体数目为 2n＝38＝38T；雄株为 2n＝37＝1sm+36T[15]。其根尖细胞间期核显示 3 个大而深染的和 1—2 个小而浅染的染色中心（图

3: g, h)。此外，穗花杉与罗汉松杉的某些属种在形态学和胚胎学发育上有许多共同特点。陈祖铿和王伏雄[8]报道，罗汉松属某些种如 *Podocarpus spicatus*, *P. andinus* 和穗花杉一样，还保持原始苛狄达科(Cordaitaceae) 的穗状花序的特点。在整个胚胎发育方面的共同特点是原胚没有明显的层次，不具初生胚柄；罗汉松属的某些种如：*P. nivalis* 与穗花杉一样，原胚在16个游离核时形成细胞壁；原胚发育同属标准型。但是初生胚细胞有否经历双核细胞阶段，两者存在差别。

综上所述，我们主要根据穗花杉的细胞学资料来分析，赞同 Hance 最初的见解，将穗花杉属归属于罗汉松科。

致谢 本系植物教研室郑朝宗教授帮助鉴定穗花杉标本，并审阅初稿，提供宝贵意见。

参 考 文 献

〔1〕 Pilger R. Gymnospermae in Enggler. A und K Prantl Die Natrill Pflanzenfamilien. Znd. 1926; **13:** Leipzig

〔2〕 Buchholz J T. Generic and subgenric distribution of the coniferales. *Bot Gaz* 1948; **110:**80—91

〔3〕 Koidzumi G. Amentotaxaceae. *Acta Phytotax Geobot* 1932; **1:** 185

〔4〕 Florin R. Evolution in Cordaites and Conifers. *Acta Horti Bergiani* 1951; **15:** 285—388

〔5〕 Janchen E. Das System der coniferen. Sitzungsber Oest Akad Wiss Math Nat Kl Abt I 1949; (3): 155—162

〔6〕 Li H L. The genus *Amentotaxus. Jour Arnold Arn Arb* 1952; **33:** 192—198

〔7〕 郑万钧，傅立国．中国植物志第7卷．北京：科学出版社，1978：436—448

〔8〕 陈祖铿，王伏雄．从胚胎发育看穗花杉属的系统位置．植物分类学报 1984; **22**(4): 269—276

〔9〕 Kudo Y, Yamamoto Y. Amentotaxaceae. Materials for a flora of Formosa Ⅳ. *Journ Soc Agric (Taihoku)* 1931; **3**(2): 110—111

〔10〕 Chuang T I, Hu W L. Study of *Amentotaxus argotaeniia* (Hance) Pilger .*Batanical Bulletin of Academia Sinica* 1963; **4:** 10—14

〔11 〕 席以珍．中国红豆杉科花粉形态的研究．植物分类学报 1986; **24**(4): 247—252

〔12〕 陈瑞阳，宋文芹，李秀兰．植物染色体标本制备的新方法．植物学报 1979; **21**: 297—298

〔13〕 Keng H. A new scheme of classification of the conifers. *Taxon* 1975; **24**(2—3): 289—292

〔14〕 田诘雅博，田中隆庄．裸子植物の染色体．遺 伝1979; **33**(6): 31—37

〔15〕 Hizume M, Shiraishi H, Tanaka A. A cytological study of *Podocarpus macrophyllus* with special reference to sex chromosomes. *Japan J Gent 19888;* **63**(5): 413—423